锰胁迫和性别竞争交互处理下沙棘雌雄幼苗生理响应特征

方玲[1]，林玉虎[1]，何云晓[1,2]，陈浩[1]，徐元洪[1]，孙旭东[1,2]，陈娟[1,2*]

（1. 绵阳师范学院 城乡建设与规划学院 四川 绵阳 621000；2. 川西北乡村人居环境建设四川省高校工程研究中心 四川 绵阳 621000）

摘　要：沙棘（*Hippophae rhamnoides*）是重要的雌雄异株人工林防护树种，但是其对环境胁迫的性别响应差异研究不足，性别竞争与胁迫因子的交互效应响应特征尚不清楚。为了探讨锰胁迫和性别竞争交互处理下沙棘雌雄植株的生理响应特征和耐受能力，旨在为沙棘修复土壤重金属污染提供实践指导，该文研究了锰胁迫 (4 000 mg·kg^{-1})和 3 种不同性别组合模式（雌雄、雌雌、雄雄）处理下沙棘的生理响应，分别测定雌雄沙棘叶片中叶绿素、过氧化物酶（peroxidase，POD）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）、总酚、游离脯氨酸（free proline，Pro）、可溶性糖（soluble sugar，SS）、甜菜碱（glycine betaine, GB）以及锰含量。结果显示：（1）锰胁迫下，在所有竞争组合中，性间竞争的雄株（M/FM）SOD 活性最高，而 MDA 含量与对照相比未有明显升高，表明雄株的抗氧化能力更好，膜氧化损伤程度更小。（2）锰胁迫时 M/FM 积累了更多的脯氨酸，表现出更好的渗透调节能力和耐受能力。（3）交互效应分析显示，性别互作和锰胁迫交互处理显著影响了沙棘雌雄叶片的光合色素、抗氧化酶活性和渗透调节能力；主成分分析显示 SOD、POD、MDA、叶绿素 b（chlorophyll b, Chlb）、SS、Pro 可作为重要的生理响应指示参数。该研究结果对于利用沙棘修复土壤重金属污染可提供一定的参考。

关键词：土壤修复，锰胁迫，沙棘，性别竞争，生理生态响应

中图分类号：Q945; S793.6　　　　　　**文献标识码：**A

Physiological response characteristics of *Hippophae rhamnoides* seedlings under interaction of Mn stress and sex-specific competition

FANG Ling [1], LIN Yuhu [1], HE Yunxiao [1,2], CHEN Hao[1], XU Yuanhong [1], SUN Xudong [1,2], CHEN Juan[1,2*]

(1. *College of Urban and Rural Construction and Planning, Mianyang Normal University*, Mianyang 621000, Sichuan, China; 2. *Sichuan University Engineering Research Center of Rural Human Settlement Environment Construction in Northwest Sichuan*, Mianyang 621000, Sichuan, China)

Abstract: Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) is an important dioecious tree species of protective plantation with insufficiently documented on the sexual responses difference to environmental stress as well as the interaction between sexual competition and heavy metal stress. In order to provide the practical guidance for repairing heavy metal pollution in soil, the

基金项目：四川省科技厅项目 (2021YJ0293)；国家自然科学基金 (31500505)；绵阳师范学院科研项目 (XSKY202101)[Supported by Sichuan Science and Technology Department Project(2021YJ0293); National Natural Science Foundation of China (31500505)； Research Program of Mianyang Normal University (XSKY202101)]。

第一作者：方玲（1996-）女，硕士研究生，研究方向为生态环境修复，(E-mail)896972899@qq.com。

通信作者：陈娟，博士，教授，研究方向景观生态和环境修复，(E-mail)cj-041698@163.com。

physiological responses and tolerance of male and female sea buckthorn plants under Mn stress and different gender interaction patterns were discussed. The physiological responses of sea buckthorn under Mn stress (4 000 mg·kg^{-1}) and three different gender combinations (female×female, male×male, female × male) were determined, including the contents of chlorophyll, peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), total phenols, free proline (Pro), soluble sugar (SS), betaine and manganese in male and female leaves. The results were as follows： (1) Under Mn stress, the SOD of male plants (M/FM) was the highest in all competition combinations, while the MDA content was not significantly increased compared with the controls, indicating that the male plants had better antioxidant capacity and less membrane oxidative damage. (2) M/FM accumulated more proline and showed better osmotic adjustment ability under Mn stress, indicating that male plants under sexual competition showed better tolerance to Mn stress. (3) The study indicated that male-female interaction and Mn stress interaction significantly affected the physiological response characteristics of sea buckthorn leaves, such as chlorophyll content, antioxidant enzyme activity and osmotic adjustment. Principal component analysis showed that the contents of SOD, POD, MDA, chlorophyll b (Chlb), SS and Pro in leaves could be used as the main physiological response indicators. The results can be used as a reference for the remediation of soil heavy metal pollution by sea buckthorn plants.

Key words: soil remediation, Mn stress, sea buckthorn(*Hippophae rhamnoides*), sexual competition, physiological and ecological response

由于不合理的矿山开采、冶金以及锰肥等各种富锰物质的过度使用，导致高浓度的锰严重污染土壤。因此，对锰污染土壤进行生态修复已成为重要课题。植物修复是利用具有重金属富集作用的植物将重金属从土壤中转移到植物的根系或者地上部分的植物体中，利用植物的根系吸收、钝化有毒金属，降低重金属生物有效性，从而达到固定或者从土壤中去除重金属的目的（张玉秀等，1999；罗玉虎，2019）。在植物修复技术应用中，植物对重金属污染的生理生态响应和富集特性的研究是筛选植物修复物种的基础和关键环节。锰是植物生长发育必需的微量元素，对植物的叶绿素形成以及酶活性调节等方面具有重要作用（李欣航等，2020）。但是过量的锰胁迫会导致植物的质膜结构改变，线粒体损伤，甚至细胞死亡。目前关于锰胁迫下植物的生理生化特征的响应已有一些研究。有研究发现马尾松(*Pinus massoniana*)可通过改变气体交换参数、光合色素含量和叶绿素荧光来维持光合作用，并通过提高过氧化氢酶、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）等抗氧化酶活性和可溶性糖、可溶性蛋白等非酶代谢物含量来抵御锰胁迫（Bai et al., 2021）；黄花草(*Cleome viscosa*)能通过提高脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖含量缓解较高浓度锰胁迫带来的毒害（肖泽华等，2019）；廖阳等（2015）研究了油茶(*Camellia oleifera*)幼苗对锰的生理响应和耐受性，发现油茶会产生大量的 SOD 和过氧化物酶（peroxidase，POD）等抗氧化酶以抵御植株体内的锰毒。这说明锰胁迫下植物产生的抗氧化酶以及分泌的渗透调节物质将影响其对锰的耐受性。

最新统计表明，全世界的雌雄异株植物大约有 15 600 种，隶属于约 175 科 987 属（Renner, 2014），其中有许多物种是重要的造林和生态防护树种。前人的研究已发现，环境胁迫条件下雌雄异株植物表现出明显的性别差异。干旱胁迫下黄柳(*Salix gordejevii*)雌株的抗氧化能力较强，受到的氧化损伤和膜质过氧化水平较低（马少薇等，2019）。Jiang 等（2013）研究发现在锌(Zn)胁迫下滇杨(*Populus yunnanensis*)雄株比雌株具有更有效的自我保护机制。也有研究显示重金属胁迫下雌株相比雄株具有更强的耐受性和富集能力，如白玉草(*Silene latifolia*)雌株组织中累积了更多的铜，雌株对镉的耐受性也较高（Vilas et al., 2016）。沙棘（*Hippohgae rhamnoides*）是胡颓子科沙棘属落叶性灌木，具有耐旱、抗逆能力强、适应性广、

抗风沙和水土保持能力强等特点（裴斌等，2013）。研究显示在 NaCl 胁迫下沙棘幼苗的生物量以及单株总叶面积显著下降（秦景等，2009），但未有研究其雌雄植株响应的性别差异。高丽等（2010）研究发现干旱胁迫下中国沙棘（*Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensi*）雌株叶片的游离脯氨酸和可溶性糖含量上升幅度大于雄株，对干旱胁迫的适应性和生理调节能力更强。Li 等（2004）研究发现 50%田间持水量时雌雄沙棘的植株株高、干物质积累量和根冠比等生长特征表现出了明显的性别差异。近年来，虽然有少量研究探讨了雌雄沙棘对环境适应的性别差异，但未有涉及性别竞争效应。在重金属胁迫下，雌雄性别互作模式是否影响沙棘对重金属胁迫的生理响应特征尚未有报道。因此，本研究以沙棘为试验材料开展盆栽实验，分析锰胁迫和性别竞争交互处理下沙棘雌雄植株叶片的生理特征的变化，拟探讨以下问题：（1）锰胁迫和性别竞争交互处理是否影响了雌雄沙棘光合和抗氧化能力？（2）锰胁迫和性别交互处理下，雌雄沙棘是否表现出渗透调节能力差异？（3）哪种性别组合模式的雌株或雄株表现出对锰胁迫更好的生理响应特征和耐受能力？研究结果将为矿区重金属污染土壤修复中沙棘的应用提供科学依据和数据支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料和实验设置

试验材料为沙棘雌雄幼苗。实验地点位于绵阳市太乙仙山植物园（104°50′13.423″，31°27′37.951″）内的实验基地，年均温 16.4 °C，年均降水量约 969.6 mm。挑选高度、生长形态较一致的雌雄沙棘幼苗种植于盆口直径为 27 cm，盆底直径 19 cm，盆高 23 cm 的塑料花盆中，每盆栽种 2 株，其中每盆土壤平均重 7.5 kg，含水量约 11%，干重约 6.675 kg。

采用三因素（性别、竞争、锰胁迫）完全随机设计，设置雌雌（FF）、雄雄（MM）、雌雄（FM）三种不同性别竞争组合，设置施锰与对照 2 种处理，锰胁迫浓度参照了锰矿开采区污染土壤的污染值，设定为 4 000 mg·kg^{-1}，以不施锰处理为对照。每个处理设置 10 个重复。自 2021 年 4 月开始每天向锰处理组施加 100 mL 浓度为 486 mmol·L^{-1} 的四水合氯化锰溶液，共施加 10 次，使土壤最终锰浓度为 4 000 mg·kg^{-1}。重金属胁迫处理 2 个月后，收获雌雄沙棘叶片用于生理参数测定。

1.2 测定方法

2021 年 6 月底，每个处理随机选取 3 株幼苗，采集每株植物上的叶片测定其生理指标和锰含量。叶绿素 a（chlorophyll a，Chla）、叶绿素 b（chlorophyll b，Chlb）含量测定参照《植物生理学实验指导》采取丙酮提取法（高俊凤，2006）；参照《植物生理学模块实验指导》（李玲，2009），游离脯氨酸（free proline，Pro）采用磺基水杨酸法，SOD 采用氮蓝四唑法，POD 采用愈创木酚法，丙二醛（malondialdehyde，MDA）采用硫代巴比妥酸法，可溶性糖（soluble sugar，SS）含量测定蒽酮法；采用 Folin-酚比色法测定植物总酚含量（total phenols, TP）（颜小捷等，2013）；采用比色法测定甜菜碱（glycine betaine, GB）含量（周芹等，2008；郭培国等，2011）；沙棘叶片经消煮后提取过滤后的消煮液采用火焰原子吸收分光光度计测定叶片锰（Mn）含量。

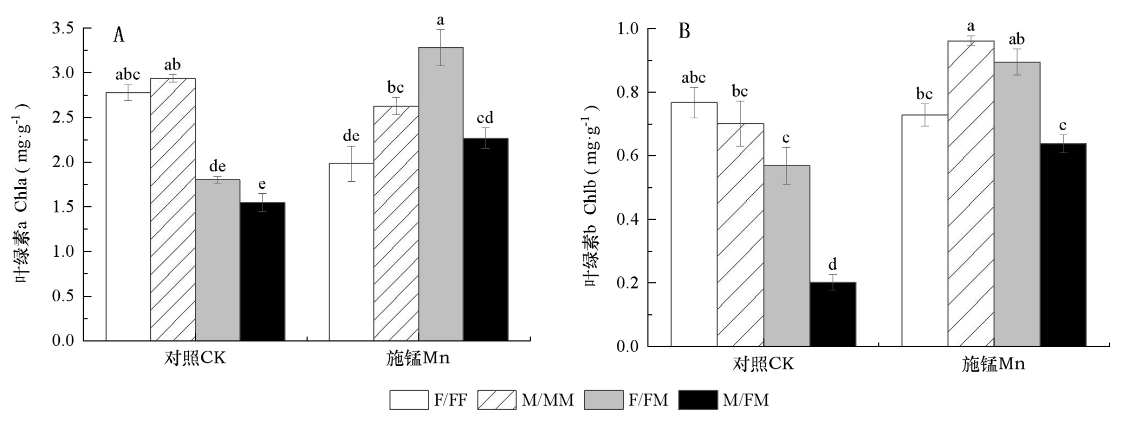
1.3 数据处理与分析

使用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析，不同处理间的差异采用单因素方差分析（one-way ANOVA），不同处理间差异显著性采用多重比较检验（Tukey’s test）。性别、竞争、施锰处理及其交互效应采用多因素方差分析，检验自变量中受单个因素影响的主效应以及自变量各个因素交叉组合下的交互效应。采用主成分分析方法判定主要的生理响应参数，分析雌雄叶片的 9 个生理响应特征参数中主成分的特征值、贡献率和累计贡献率。采用 Origin 2021 软件绘制柱形图。

2 结果与分析

2.1 锰胁迫和性别竞争交互处理下雌雄沙棘叶片叶绿素含量变化

叶绿素是植物进行光合作用的主要色素，能反应植物光合作用的强弱。由图 1 可知，对照处理时性别内竞争雌雄沙棘的 Chla 和 Chlb 含量总体高于性别间竞争。与对照相比，施锰处理后性别间竞争显著提高了雌雄叶片的 Chla 和 Chlb 含量（$P<0.05$）。性别间竞争处理的雌株（F/FM）叶片的 Chla 和 Chlb 含量显著高于雄株（M/FM），但与对照相比雄株 M/FM 的 Chlb 增加更多，这说明雄株对锰处理具有更明显的响应特征。施锰处理显著降低了性别内竞争中的雌株（F/FF）的 Chla 含量，施锰处理时性别内竞争处理的雄株（M/MM）叶片的 Chla 和 Chlb 含量显著高于雌株（F/FF）（$P<0.05$），这说明性内竞争下雄株比雌株拥有更好的光合能力。



小写字母表示各处理之间差异显著（采用 Tukey's test，$P<0.05$）。F/FF 表示性别内组合下的雌株；M/MM 表示性别内组合下的雄株；F/FM 性别间组合内的雌株；M/FM 性别间组合下的雄株。下同。

The lowercase letters indicate significant differences between treatments using Tucky multiple comparisons ($P<0.05$). F/FF indicates female plants under intra-sex combinations ; M/MM indicates male plants under intra-sex combinations; F/FM indicates female plants in intersex combinations; M/FM indicates male plants in intersex combination. The same below.

图 1 Mn 胁迫和性别竞争交互处理对雌雄沙棘叶片叶绿素 a（**A**）和叶绿素 b（**B**）含量的影响

Fig.1 Effects of Mn stress on chlorophyll a（**A**）and chlorophyll b（**B**）contents of sea buckthorn leaves under different sexual competition patterns

2.2 锰胁迫和性别竞争交互下雌雄沙棘叶片抗氧化酶活性和 MDA 含量变化

植物受重金属胁迫时会产生大量的活性氧自由基，损伤主要的生物大分子及引起膜脂过氧化。植物中的多种抗氧化防卫系统包括 SOD、POD 等抗氧化酶能清除自由基，保护细胞免受氧化胁迫的危害（曾小飚等，2019）。由图 2 可知，在锰胁迫下沙棘叶片的 SOD、POD 含量总体低于对照组。对照处理时性别内和性别间竞争的雌雄叶片的 SOD、POD 含量差异均不显著，施锰处理时性别间竞争的雄株（M/FM）叶片的 SOD 含量显著高于雌株（F/FM）（$P<0.05$），POD 含量无显著差异。与对照相比，施锰处理显著抑制了雌株（F/FF 和 F/FM）叶片的 SOD 含量，增加了性别间竞争组合的差异。与对照相比，施锰处理显著抑制了 F/FF 和 M/FM 的 POD 值。

丙二醛是细胞膜脂过氧化反应的产物，作为植物受胁迫生理响应的指标，其含量的变化可反映逆境条件下膜系统受损程度（文珂等，2018；张宝成等，2021）。由图 2 可知，施锰组的叶片的 MDA 含量总体上高于对照组。与对照相比，施锰处理显著增加了性别间竞争组合的差异，雌株（F/FM）MDA 含量显著高于雄株（M/FM）（$P<0.001$），而 M/MM 和 M/FM 的 MDA 含量与对照相比差异不显著，这说明雄株表现出更好的细胞膜稳定性和抗膜脂过氧化能力。

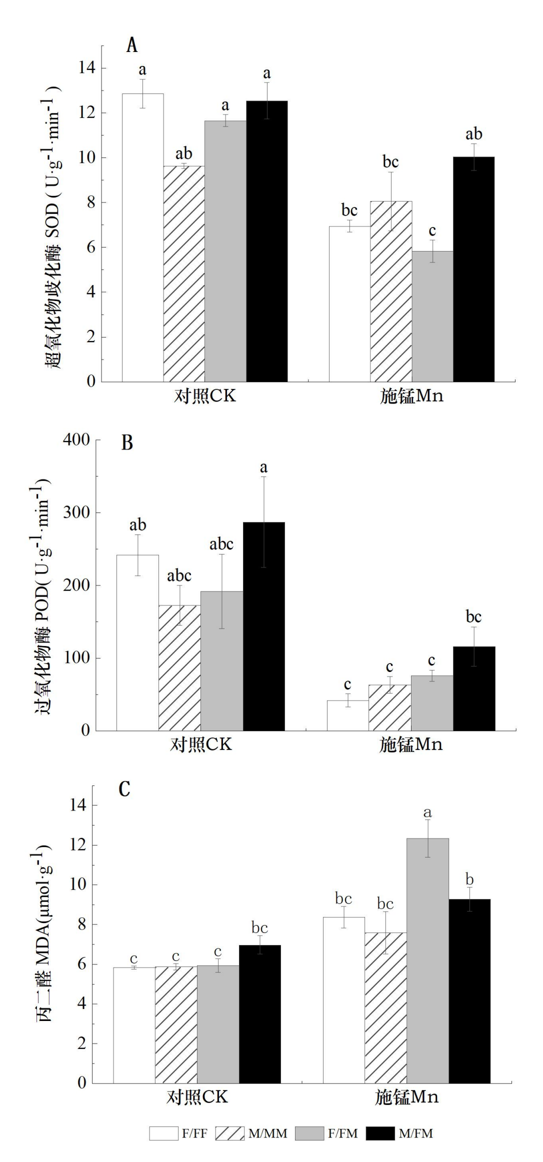


图 2 Mn 胁迫和性别竞争交互处理对雌雄沙棘叶片 SOD（**A**）、POD 活性（**B**）和 MDA 含量（**C**）的影响

Fig.2 Effects of Mn stress on SOD (**A**), POD (**B**) activities and MDA content（**C**）of sea buckthorn leaves under different sexual competition patterns

2.3 锰胁迫和性别竞争交互下沙棘叶片可溶性糖和脯氨酸含量变化

可溶性糖是植物生长发育的主要营养成分，也是植物体内的重要信号分子，能够参与植物在逆境胁迫下的信号转导和渗透调节；游离脯氨酸也在植物渗透调节中发挥着重要的作用（张虎等，2015）。从图 3 可知，对照处理下所有的竞争组合中，性别内竞争模式下雌株（F/FF）的 SS 含量最高（$P<0.05$），而施锰处理后显著降低了雌株（F/FF）SS 含量，使各竞争组合中雌雄叶片无明显差异。对照处理下，性间竞争中的雄株（M/FM）的 Pro 含量显著高于雌株。施锰处理后 M/FM 叶片 Pro 含量总体高于对照处理显著上升，在所有竞争组合中，M/FM 的叶片 Pro 积累量最高，为 1 914.75 μg·g^{-1}。施锰处理增加了性别内竞争的雌雄（F/FF 和 M/MM）叶片 Pro 含量的差异，表现为 M/MM 显著高于 F/FF。总体上看，对照下性内竞争组合中和锰处理下的性内和性间竞争组合中的雄株叶片 Pro 含量均显著高于雌株（$P<0.001$），这说明沙棘雄株表现出比雌株更好的渗透调节能力。

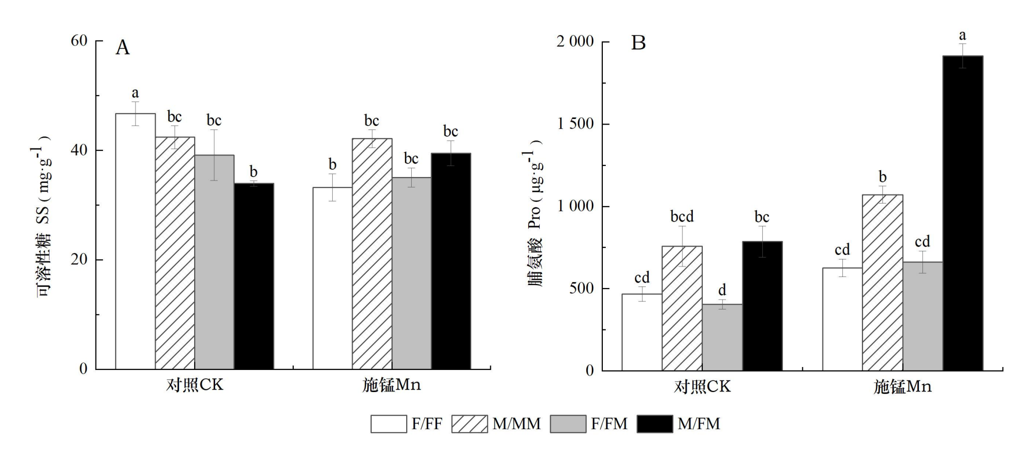


图 3 Mn 胁迫和性别竞争交互处理对雌雄沙棘叶片可溶性糖（**A**）和脯氨酸（**B**）含量的影响

Fig.3 Effects of Mn stress on SS (**A**) and proline (**B**) contents of sea buckthorn leaves under different sexual competition patterns

2.4 锰胁迫和性别竞争交互下雌雄沙棘叶片总酚和甜菜碱含量变化

植物酚类具有抗氧化的作用，能以单电子转移的方式清除或减少活性氧自由基（文珂等，2018；朱珍珍等，2019）。甜菜碱是高等植物重要的渗透调节物质，能够提高细胞的渗透调节能力，降低因渗透失水造成对细胞膜、酶及蛋白质结构与功能的伤害。由图 4 可知，对照处理时 TP 含量的取值范围在 47.52～73.15 $mg·g^{-1}$ 之间，施锰处理时取值在 54.17～83.70 $mg·g^{-1}$，其中性别内竞争模式下的雌株（F/FF）的 TP 含量显著高于性别间竞争模式下的雄株（M/FM）。但锰处理下各竞争组合的雌雄叶片 TP 含量较对照组无显著变化（$P>0.05$）。对照处理下性别间竞争模式中雌株（F/FM）GB 含量显著高于雄株（M/FM）和性内竞争中的雌株（F/FF）（$P<0.001$），施锰处理显著降低了性间竞争中雌株（F/FM）和性内竞争中雄株（M/MM）的叶片 TP 含量，但施锰处理下性别内和性别间竞争模式的叶片 GB 含量均无显著差异（$P>0.05$），这说明锰处理降低了各竞争组合中雌雄叶片 GB 含量的性别差异。

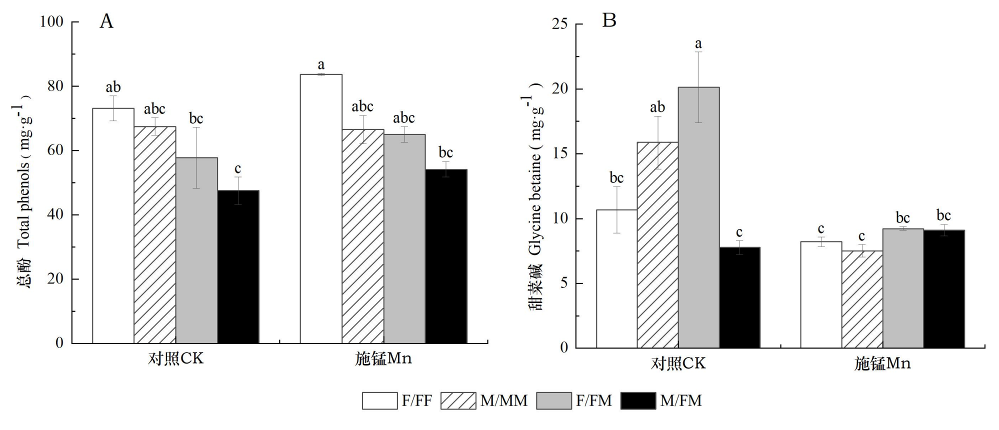


图 4 Mn 胁迫和性别竞争交互处理对雌雄沙棘叶片总酚（**A**）和甜菜碱（**B**）含量的影响

Fig.4 Effects of Mn stress on total phenols (**A**) and glycine betaine (**B**) contents of sea buckthorn leaves under different sexual competition patterns

2.5 锰胁迫和性别竞争交互下雌雄沙棘叶片锰含量变化

从图 5 可知，与对照处理相比，施锰显著增加了所有竞争组合中雌雄沙棘叶片的锰含量（$P<0.001$）。对照处理时两种混栽模式的叶片 Mn 含量无明显差异，施锰处理后性别内和

性别间栽种模式中的雌株叶片锰含量均高于雄株，但未达到显著水平。

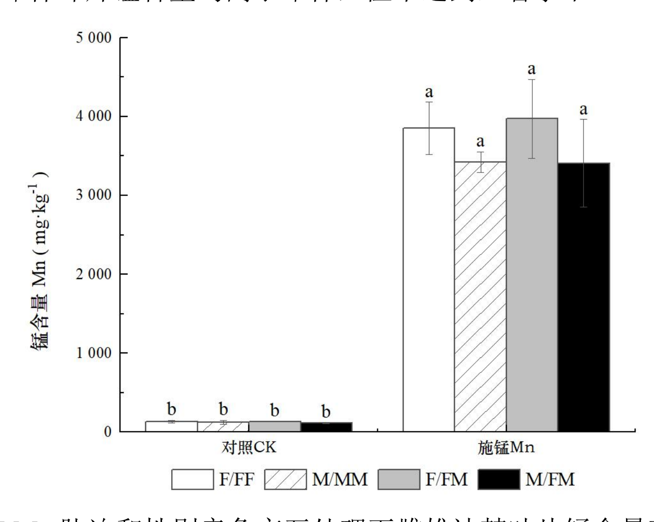


图 5 Mn 胁迫和性别竞争交互处理下雌雄沙棘叶片锰含量变化

Fig.5 Effects of Mn stress on Mn content of sea buckthorn leaves under different sexual competition patterns

2.6 交互效应和主成分分析

主体间效应检验显示，如表 1 所示，性别和竞争的交互处理显著影响了 Chla、Chlb、SOD、MDA、Pro 和 GB，性别和重金属胁迫交互显著影响了 Chlb、SOD、MDA、SS 和 Pro，竞争与重金属交互显著影响了 Chla、Chlb、MDA、SS 和 Pro，而性别、竞争和重金属胁迫的交互显著影响了 Chla、Pro 和 GB。

表 1 性别、竞争、施锰处理及其交互作用对雌雄沙棘叶片生理指标的影响

Table1 Effects of different sexual competition patterns and Mn application and their interaction on physiological indexes of sea buckthorn leaves

生理指标 Physiologic index	性别处理 Sex	竞争处理 Competition	施锰处理 Mn application	性别×竞争 Sex×Competition	性别×施锰 Sex×Mn application	竞争×施锰 Competition×Mn application	性别×竞争×施锰 Sex×Competition×Mn application
叶绿素 a (Chla)	0.202 ns	0.001 **	0.007 *	0.000 **	0.442 ns	0.000 **	0.003 *
叶绿素 b (Chlb)	0.002 *	0.000 **	0.000 **	0.000 **	0.004 *	0.000 **	0.144 ns
超氧化物歧化酶(SOD)	0.135 ns	0.196 ns	0.000 **	0.002 *	0.001 **	0.657 ns	0.595 ns
过氧化物酶(POD)	0.373 ns	0.131 ns	0.000 **	0.073 ns	0.719 ns	0.824 ns	0.146 ns
丙二醛(MDA)	0.131 ns	0.001 **	0.000 **	0.476 ns	0.012 *	0.021 *	0.079 ns
游离脯氨酸(Pro)	0.000 **	0.001 **	0.000 **	0.000 **	0.000 **	0.000 **	0.003 *
可溶性糖(SS)	0.587 ns	0.028 *	0.097 ns	0.451 ns	0.005 *	0.043 *	0.614 ns
甜菜碱(GB)	0.060 ns	0.327 ns	0.000 **	0.001 **	0.126 ns	0.753 ns	0.000 **
总酚(TP)	0.003 *	0.000 **	0.085 ns	0.888 ns	0.357 ns	0.741 ns	0.405 ns
锰(Mn)	0.239 ns	0.911 ns	0.000 **	0.865 ns	0.262 ns	0.890 ns	0.885 ns

注: *表示显著（$0.001<P<0.05$）；**表示极显著（$P\leqslant0.001$）；ns 表示不显著（$P>0.05$）。

Note: * indicates significant differences ($0.001<P<0.05$); ** indicates extremely significant differences ($P\leqslant 0.001$); ns indicates no significant differences ($P>0.05$).

由表 2 与图 6 可知，三个主成分共同解释了 73.507%的信息。主成分 PC1 解释了 37.678%，主要受 SOD、POD、Chlb、MDA 的影响，PC1 与 Chlb、MDA 均为正相关，与 SOD、POD 为负相关，其中 SOD 与 PC1 相关性最高，达-0.887。PC2 解释了 21.228%，PC3 解释了 14.600%，

均主要受 SS、Pro 的影响。说明 SOD、POD、MDA、Chlb、SS、Pro 含量可作为性别竞争交互处理下沙棘雌雄叶片受重金属胁迫的主要指示指标。

表2 主成分特征值及累计贡献率

Table 2 Principal component eigenvalues and accumulative contribution rate

成份 Component	初始特征值 Initial eigenvalue	贡献率 Contribution rate (%)	累计贡献率 Accumulating contribution rate (%)
1	3.391	37.678	37.678
2	1.911	21.228	58.907
3	1.314	14.600	73.507

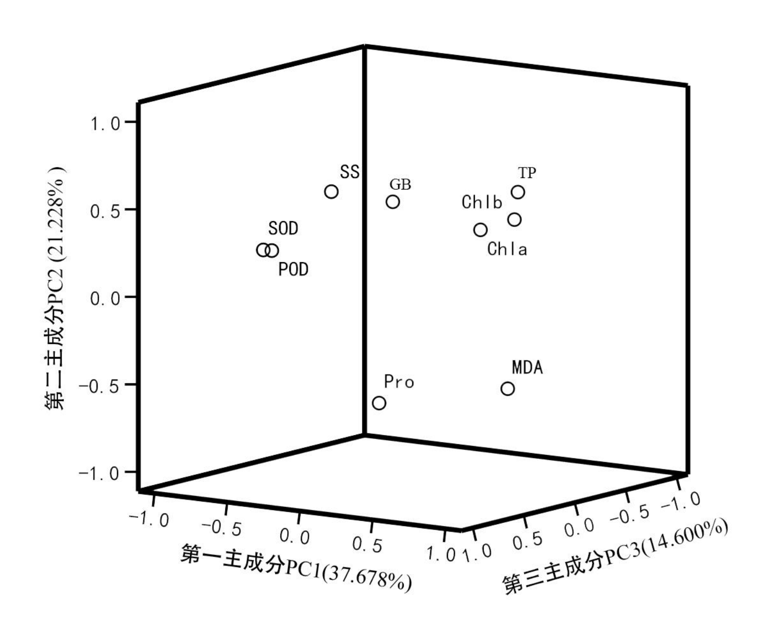


图 6 锰胁迫和性别竞争交互处理下雌雄沙棘生理响应参数的主成分分析

Fig.6 Principal component analysis of physiological and ecological response parameters of sea buckthorn under Mn stress and sexual interaction patterns

3 讨论

3.1 锰胁迫和性别竞争交互对雌雄沙棘叶片光合色素和抗氧化酶活性的影响

研究显示在植物受到胁迫时，叶绿素会呈现上升的趋势，当胁迫达到一定程度之后叶绿素含量开始下降。如低铁、锰胁迫下人参叶片的 Chla 和 Chlb 含量表现出上升的趋势（高明等，2012）；铅处理会显著增加桑树雌雄幼苗叶片 Chla 和 Chlb 的含量，且雄株的叶绿素增加幅度高于雌株（秦芳等，2014）。本研究显示在高浓度锰的胁迫下，沙棘叶片的 Chla 和 Chlb 含量较对照处理较高。其原因可能是沙棘受到高浓度锰的胁迫时，生长受到强烈的抑制，生物量降低，相比对照处理产生了“浓缩效应”导致叶绿素含量的相对增长（高明等，2012）。

研究显示，锰胁迫在一定程度上会改变植物的抗氧化酶活性。高浓度的锰离子抑制紫花苜蓿的抗氧化酶的活性，叶片 MDA 含量呈现上升趋势（曹婧，2019）。野大豆幼苗在锰浓度增加到一定程度时 POD 含量开始降低且比对照组减少 80.30%（文珂等，2018）。这与本

研究结果一致，抗氧化酶可以清除植物受胁迫时产生的大量膜脂过氧化产物，但当毒害物质含量超过植物自身清除能力时，高浓度的锰离子抑制抗氧化酶的活性，损害细胞的正常代谢，植物的抗氧化能力和应激反应能力降低。研究显示，雌雄异株植物对环境胁迫表现出性别响应差异。有研究发现铅胁迫对雌株美洲黑杨负面影响更大（朱珍珍等，2019）。淹水胁迫下青杨雄株表现出比雌株更强的抗逆性（杨鹏和胥晓，2012）。本研究结果显示，不同性别组合的雌雄沙棘叶片的 SOD、POD 活性和 MDA 含量在锰胁迫下表现出显著差异，这表明性别竞争调节了雌雄植株对锰胁迫的抗氧化酶响应特征。施锰后 M/FM 的 SOD 活性较雌株更高，MDA 含量较雌株低，且 MDA 含量与对照相比无显著差异，这说明性间竞争中的雄株表现出更好的抗氧化酶活性和膜稳定性。

3.2 锰胁迫和性别竞争交互对雌雄沙棘叶片代谢物质和锰积累的影响

研究显示，沙棘体内渗透调节物质对锰胁迫的响应存在性别差异。施锰处理后沙棘叶片中的可溶性糖并无显著提高，但脯氨酸含量较对照升高。锰胁迫下性别内和性别间竞争下的雄株脯氨酸值均大于雌株，表现出显著的性别响应差异。有研究表明盐分、干旱胁迫以及两者的交互胁迫下，滇杨雌雄植株中积蓄大量的脯氨酸，渗透调节能力表现为雄株高于雌株（Chen et al., 2010）。这与本研究结果一致，说明沙棘雄株在锰胁迫下表现出更好的渗透调节能力。有研究表明甜瓜的西州密 17 号和黄皮 9818 在不断加重的盐胁迫下甜菜碱含量表现出先升高后降低的趋势，且下降趋势明显（熊韬等，2021）。我们的试验结果显示，施锰处理后显著降低了 M/MM 和 F/FM 的甜菜碱含量。对照处理下性别间竞争模式中雌雄株差异显著（$P<0.001$），而施锰处理下性别内和性别间竞争模式的叶片甜菜碱含量均无显著差异（$P>0.05$），说明锰胁迫改变了雌雄植株体内的甜菜碱含量水平，降低了其性别差异。总体上，在观测的 3 种渗透调节物质中，脯氨酸表现出更显著的渗透调节响应特性和性别差异。另外，实验结果显示，与对照相比，施锰对雌雄沙棘植株叶片总酚含量无显著影响，这说明沙棘叶片代谢物质对锰胁迫的响应敏感性存在差异。

在重金属积累方面，有研究显示，铅、镉胁迫下美洲黑杨雌株叶片重金属的含量显著大于雄株（陈良华等，2017），表现出性别响应差异。本实验中锰胁迫显著增加了雌雄沙棘叶片锰含量，但两者并未表现出显著的性别差异，其他器官锰积累上的性别差异仍值得进一步研究。

4 结论

（1）雌雄互作和锰胁迫交互影响了沙棘雌雄叶片的叶绿素 a 和 b 含量、SOD、POD、MDA 以及 Pro、SS 和 GB 等生理生态响应特征，且雌雄植株间表现出显著的性别差异。

（2）锰胁迫显著抑制了性别内处理时雌株（F/FF）的叶绿素 a、SOD、POD 和 SS 含量，且显著增加了 MDA 含量，表明其受到更大的锰毒害，抗逆性和耐受性更低；性别间处理时雄株（M/FM）比雌株积累更多的渗透调节物质，更低的 MDA 含量，表明其抗氧化能力较强，对锰的耐受能力更强。

参考文献：

BAI YX, ZHOU YC, GONG JF, 2021. Physiological mechanisms of the tolerance response to Mn stress exhibited by *Pinus massoniana*, a candidate plant for the phytoremediation of Mn-contaminated soil[J]. Environ Sci Pollut Res, 28(16): 45422-45433.

CAO J, LI XL, WAN LQ, 2019. Effects of Mn stress on physiological and growth characteristics of *Medicago sativa* L. [J]. Chin J Grassl, 41(6): 15-22.[曹婧，李向林，万里强，2019. 锰胁迫对紫花苜蓿生理和生长特性的影响[J]. 中国草地学报，41(6): 15-22.]

CHEN LH, HU XW, YANG WQ, et al., 2017. Effects of arbuscular mycorrhizae fungi inoculation

on absorption of Pb and Cd in females and males of *Populus deltoides* when exposed to Pb and Cd pollution[J]. Acta Sci Circum, 37(1): 308-317.[陈良华，胡相伟，杨万勤，等，2017. 接种丛枝菌根真菌对雌雄美洲黑杨吸收铅镉的影响[J]. 环境科学学报，37(1): 308-317.]

CHEN LH, ZHANG S, ZHAO HX, et al., 2010. Sex-related adaptive responses to interaction of drought and salinity in *Populus yunnanensis*[J]. Plant Cell Environ, 33(10): 1767-1778.

GAO JF, 2006. Experimental guidance on plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press:74.[高俊凤，2006. 植物生理学实验指导[M]. 北京：高等教育出版社：74.]

GAO L, YANG J, LIU RX, 2010. Leaf morphological structure and physiological and biochemical characteristics of female and male *Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis* under different soil moisture condition [J]. Chin J Appl Ecol, 21(9): 2201-2208.[高丽，杨劼，刘瑞香，2010. 不同土壤水分条件下中国沙棘雌雄株叶片形态结构及生理生化特征[J]. 应用生态学报，21(9): 2201-2208.]

GAO M, SUN H, ZHANG LN, et al., 2012. Effects of iron and Mn stress on some physiological characters of *Panax ginseng* leaves [J]. J Jilin Agric Univ, 34(2): 130-137.[高明，孙海，张丽娜，等，2012. 铁、锰胁迫对人参叶片某些生理特征的影响[J]. 吉林农业大学学报，34(2): 130-137.]

GUO PG, SONG BL, XU LG, et al., 2011. Improvement of spectral method for determination of betaine content in plant tissues [J]. J Guangzhou Univ (Nat Sci Ed), 10(3): 32-36. [郭培国，宋波龙，许兰桂，等，2011. 光谱法测定植物组织中甜菜碱含量方法的改良[J]. 广州大学学报(自然科学版)，10(3): 32-36.]

JIANG H, KORPELAINEN H, LI CY, 2013. *Populus yunnanensis* males adopt more efficient protective strategies than females to cope with excess zinc and acid rain[J]. Chemosphere, 91(8): 1213-1220.

LI CY, REN J, LUO JX, et al., 2004. Sex-specific physiological and growth responses to water stress in *Hippophae rhamnoides* populations[J]. Acta Physiol Plant, 26(2): 123-129.

LI L, 2009. Experimental guidance of plant physiology module [M]. Beijing: Science Press: 48-98.[李玲，2009. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京：科学出版社：48-98.]

LI XH, XIAO ZH, LIU WS, 2020. Physiological and biochemical responses of *C. chinensis* seedlings in heavy metal polluted and non-polluted areas to Mn stress [J]. N Hortic, 14: 118-128. [李欣航，肖泽华，刘文胜，2020. 重金属污染区与非污染区鸡眼草幼苗对锰胁迫的生理生化响应[J]. 北方园艺，14: 118-128.]

LIAO Y, YAN RL, CHENG J, et al.,2015. Early physiological response and manganese tolerance of *Camellia oleifera* seedlings to different concentrations of manganese ions [J]. Guihaia, 35(6): 922-929.[廖阳，闫荣玲，程俊，等，2015. 油茶幼苗对不同浓度锰离子的早期生理响应及其耐锰能力初探[J]. 广西植物，35(6): 922-929.]

LUO YH, 2019. Research progress of heavy metal contaminated soil remediation [J]. S Chin Agric, 13(22): 73-76.[罗玉虎，2019. 重金属污染土壤修复研究进展[J]. 南方农业，13(22): 73-76.]

MA SW, LIU GH, WANG L, et al., 2019. Effects of drought stress on growth and physiological characteristics of male and female cutting seedlings of *Salix babylonica* [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 39(7): 1250-1258.[马少薇，刘果厚，王蕾，等，2019. 干旱胁迫对黄柳雌雄扦插苗生长和生理特性的影响[J]. 西北植物学报，39(7): 1250-1258.]

PEI B, ZHANG GC, ZHANG SY, et al., 2013. Effects of soil drought stress on photosynthetic and antioxidant enzyme activities in *Hippophae rhamnoides* Linn. seedlings [J]. Acta Ecol Sin,

33(5): 1386-1396. [裴斌，张光灿，张淑勇，等，2013. 土壤干旱胁迫对沙棘叶片光合作用和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报，33(5): 1386-1396.]

QIN F, XU X, LIU G, et al., 2014. Gender differences in physiological tolerance and accumulation ability of *Morus alba* seedlings to lead pollution [J]. Acta Sci Circumst, 34(10): 2615-2623.[秦芳，胥晓，刘刚，等，2014. 桑树(*Morus alba*)幼苗对铅污染的生理耐性和积累能力的性别差异[J]. 环境科学学报，34(10): 2615-2623.]

QIN J, HE KN, TAN GD, et al., 2009. Effects of NaCl stress on growth and photosynthetic characteristics of *Hippophea rhamnoides* and *Shepherdia argentea* seedlings [J]. Chin J Appl Ecol, 20(4): 791-797.[秦景，贺康宁，谭国栋，等，2009. NaCl 胁迫对沙棘和银水牛果幼苗生长及光合特性的影响[J]. 应用生态学报，20(4): 791-797.]

RENNER SS, 2014. The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database [J]. Amer J Bot, 101(10): 1588-1596.

VILAS JS, CAMPOY JG, RETUERTO R, 2016. Sex and heavy metals: Study of sexual dimorphism in response to soil pollution[J]. Environ Exp Bot, 126: 68-75.

WEN K, GUO XY, TAN NN, et al., 2018. Effects of Mn stress on seed germination and physiological and biochemical characteristics of *Glycine soja* seedlings [J]. Seed, 37(3): 40-45. [文珂，郭晓玉，谭娜娜，等，2018. 锰胁迫对野大豆种子萌发及幼苗生理生化特征的影响[J]. 种子，37(3): 40-45.]

XIAO ZH, LI XH, PAN G, et al., 2019. Effects of Mn stress on seed germination, and seedling physiological and biochemical characteristics of *Cleome viscosa* [J]. Acta Pratac Sin, 28(12): 75-84. [肖泽华，李欣航，潘高，等，2019. 锰胁迫对黄花草种子萌发及幼苗生理生化特征的影响[J]. 草业学报，28(12): 75-84.]

XIONG T, YAN M, WANG JT, et al., 2021. Effects of saline-alkali stress on osmotic adjustment substances of *Cucumic melo* L. seedlings[J]. J Zhejiang Agric Sci, 62(12):2430-2434. [熊韬，闫淼，王江涛，等，2021. 盐碱胁迫对甜瓜幼苗渗透调节物质的影响[J]. 浙江农业科学，62(12): 2430-2434.]

YAN XJ, GU ZX, LU FL, et al., 2013. Determination of total phenol in *Callicarpa nudiflora* by FOLIN-phenol colorimetric method [J]. Chin J Exp Trad Med Formul, 19(18): 74-78.[颜小捷，谷陟欣，卢凤来，等，2013. FOLIN-酚比色法测定裸花紫珠中总酚含量[J]. 中国实验方剂学杂志，19(18): 74-78.]

YANG P, XU X, 2012. Effects of waterlogging stress on physiological characteristics and growth of male and female *Poplar cathayana* seedlings [J]. Chin J Plant Ecol, 36(1): 81-87.[杨鹏，胥晓，2012. 淹水胁迫对青杨雌雄幼苗生理特性和生长的影响[J]. 植物生态学报，36(1): 81-87.]

ZENG XB, TANG JM, ZHU CH, et al., 2019. Effects of nickel stress on physiological and biochemical characteristics of *Helianthus annuus* seedlings [J]. Guihaia, 39(12): 1702-1709.[曾小飚，唐健民，朱成豪，等，2019. 重金属镍胁迫对向日葵幼苗生理生化特性的影响[J]. 广西植物，39(12): 1702-1709.]

ZHANG BC, LIU YF, LI YL, et al., 2021. Effects of Mn stress on growth, physiological and biochemical characteristics of *Conyza canadensis* [J]. J NE Agric Sci , 46(4): 110-112. [张宝成，刘云芳，李应禄，等，2021. 锰胁迫对小飞蓬生长与生理生化特征影响初探[J]. 东北农业科学，46(4): 110-112.]

ZHANG H, KOU JT, SHI SL, 2015. Physiological and biochemical responses of *Medicago sativa* seed germination to cobalt stress [J]. Acta Pratacul Sin, 24(9): 146-153.[张虎，寇江涛，师尚

礼，2015. 紫花苜蓿种子萌发对钴胁迫的生理生化响应[J]. 草业学报，24(9): 146-153.]

ZHANG YX, CHAI TY, GERARDBURKARD,1999. Research progress on mechanism of heavy metal tolerance in plants[J]. Acta Bot Sin, 41(5): 453-457.[张玉秀，柴团耀，Gerardburkard，1999. 植物耐重金属机理研究进展[J]. 植物学报，41(5): 453-457.]

ZHOU Q, WU YM, HU XH, et al., 2008. Determination of betaine content in sugar beet root by colorimetric method [J]. Sugar Crop Chin, 4: 27-28.[周芹，吴玉梅，胡晓航，等，2008. 比色法测定甜菜块根中甜菜碱含量[J]. 中国糖料，4: 27-28.]

ZHU ZZ, ZHANG MJ, ZHANG J, et al., 2019. Effects of exogenous NO on physiological characteristics of poplar under lead stress [J]. J Yunnan Agric Univ (Nat Sci Ed), 34(3): 494-502. [朱珍珍，张明锦，张健，等，2019. 外源 NO 对铅胁迫下雌雄美洲黑杨生理特征的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学版)，34(3): 494-502.]